

Aq. dispersion of phospholipid(s) contg. fluorocarbon(s) - used as gas transporting media in diagnoses, and as an oxygen@ transporting substance e.g. a component of artificial blood

Patent number: DE4127442
Publication date: 1993-02-18
Inventor: GROSS UDO DR RER NAT (DE); RUEDIGER STEPHAN DR RER NAT (DE); RADECK WOLFGANG DR RER NAT (DE)
Applicant: ZENTRALINSTITUT FUER ANORGANIS (DE)
Classification:
- international: **A61K9/00; A61K9/127; A61K49/18; A61K49/22; A61K9/00; A61K9/127; A61K49/06; A61K49/22; (IPC1-7): A61K9/127**
- european: A61K9/00N4; A61K9/127; A61K49/18K8; A61K49/22P16
Application number: DE19914127442 19910817
Priority number(s): DE19914127442 19910817

Also published as:



CH684628 (A5)

Report a data error here

Abstract of DE4127442

An aq. dispersion of fluorocarbon-contg. phospholipid vesicles comprises an aq. dispersion contg. phospholipid vesicles of lamellar layer structure in which are enclosed one or more oxygen transporting fluorocarbons in a concn. of 2-100% w/v. in a cage like structure, the phospholipid vesicles having a uniform particle size of 80-400nm. USE/ADVANTAGE - Used as a gas transporting medium and as a diagnostic in biological systems both in vivo and in vitro. They can be mixed with electrolytes, energy carriers and onkotic substances as artificial blood special oxygen-transporting pharmaceutical preps. for the treatment of shock, cardiac infarction and cerebral ischaemia. They can also be used to support radio- and chemotherapy of malign tumours and as a contrast agent in X-ray, magnetic resonance and ultrasound diagn

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide



① BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 41 27 442 A 1**

⑤ Int. Cl.⁵:
A61 K 9/127

⑳ Aktenzeichen: P 41 27 442.3
㉑ Anmeldetag: 17. 8. 91
㉒ Offenlegungstag: 18. 2. 93

DE 41 27 442 A 1

㉓ **Anmelder:**
Zentralinstitut für anorganische Chemie, O-1199
Berlin, DE

㉔ **Vertreter:**
Felke, H.; Walter, W., Pat.-Anwälte, O-1156 Berlin

㉕ **Erfinder:**
Groß, Udo, Dr.rer.nat., O-1125 Berlin, DE; Rüdiger,
Stephan, Dr.rer.nat., O-1142 Berlin, DE; Radeck,
Wolfgang, Dr.rer.nat., O-1156 Berlin, DE

⑤④ **Wäßrige Dispersion Fluorcarbon enthaltender Phospholipid-Vesikel und ein Verfahren zu ihrer Herstellung**

⑤⑦ Erfindungsbetreff ist eine wäßrige Dispersion Fluorcarbon enthaltender Phospholipidvesikel und ein Verfahren zu ihrer Herstellung. Diese Dispersion ist vor allem als gastransportierendes Medium und als Diagnostikum sowohl in biologischen Systemen in vivo als auch in vitro einsetzbar. Die erfindungsgemäße wäßrige Dispersion ist dadurch gekennzeichnet, daß in ihr die Phospholipidvesikel ein oder mehrere sauerstofftransportierende Fluorcarbone in einer Konzentration zwischen 2 und 100% w/v käfigartig und mit lamellarer Schichtstruktur ausgebildet eingeschlossen enthalten und die wäßrige Dispersion diese Phospholipidvesikel mit einer einheitlichen Teilchengröße zwischen 80 und 400 nm enthält. Das erfindungsgemäße Herstellungsverfahren ist dadurch gekennzeichnet, daß man ein Phospholipid und ein oder mehrere sauerstofftransportierende Fluorcarbone wahlweise unter Zusatz eines EO-PO-Blockpolymeremulgators in wäßriger Phase auf einen einheitlichen Teilchendurchmesser zwischen 80 und 400 nm homogenisiert und die Phase der Fluorcarbon enthaltenden Phospholipidvesikel, nach dem Entfernen des Emulgators, isoliert.

DE 41 27 442 A 1

Die vorliegende Erfindung betrifft eine wäßrige Dispersion Fluorcarbon enthaltender Phospholipidvesikel und ein Verfahren zu ihrer Herstellung. Diese Phospholipidvesikeldispersion ist vor allem als gastransportierendes Medium und als Diagnostikum sowohl in biologischen Systemen in vivo als auch in vitro einsetzbar.

Fluorcarbone sind in der Form wäßriger Emulsionen wegen ihrer chemischen Inertheit und des Gaslösungsvermögens geeignet, in biologischen Systemen den Sauerstofftransport zu gewährleisten. In der geeigneten Form, d. h. im Gemisch mit Elektrolyten, Energieträgern und onkotisch wirkenden Substanzen können sie als Blutersatzstoffe und als spezielle O₂-transportierende pharmazeutische Präparate zur Behandlung des Schocks, des Herzinfarkts und der cerebralen Ischämie angewendet werden. Weitere Anwendungen sind die Unterstützung der Radio- und Chemotherapie maligner Tumoren und als Kontrastmittel in der Röntgen-, Magnetresonanz- und Ultraschalldiagnostik.

Als Fluorcarbone werden bevorzugt cyclische bzw. polycyclische Fluorkohlenstoffe, z. B. Perfluordecalin und tertiäre aliphatische oder cyclische Amine eingesetzt. Wegen der Geschwindigkeit der Exkretion der Fluorcarbone aus dem lebenden Organismus müssen Parameter wie Molekülmasse, Dampfdruck und kritische Löslichkeitstemperatur in n-Hexan (als ein Maß für die Lipidlöslichkeit) streng beachtet werden.

Die Herstellung wäßriger, mit dem menschlichen Blut kompatibler Fluorcarbonemulsionen macht biokompatible Emulgatoren erforderlich. Zu einem gewissen Maße erfüllen Ethylenoxid-Propylenoxid-Blockpolymeremulgatoren (im folgenden EO-PO-Blockpolymeremulgatoren genannt) diese Anforderungen. Jenseits ungeachtet werden einige grundlegende Nebenwirkungen bei der Applikation von Fluorcarbonemulsionen den Blockpolymeremulgatoren zugeschrieben (Anaphylaktische Reaktionen, Komplementaktivierung, Leukocytopenie).

Zusätzlich sind einige physikalische Parameter der Emulsionsbildung und Emulsionsstabilisierung mit Blockpolymeremulgatoren nicht optimal gelöst. So ist die Stabilität entsprechender Fluorcarbonemulsionen bei Raumtemperatur und die notwendige Langzeitstabilität der Lagerung unbefriedigend; eine thermische Sterilisierung der medizinischen Präparate ist nicht möglich.

Probleme, die die Resttoxizität des Blockpolymeremulgators betreffen, können überwunden werden, wenn an dessen Stelle Phospholipide, z. B. Ei- oder Sojalecithine, eingesetzt werden. YOKOYAMA (Green Cross Corp., Osaka) beansprucht mit US-Patent 39 62 439 (1976) eine Fluorcarbonemulsion als Blutersatzmittel, die ein Fluorcarbon mit 9 bis 11 Kohlenstoffatomen mit einer Konzentration von 10 bis 40% enthält und durch ein Phospholipid in Verbindung mit langkettigen Fettsäuren, deren Salzen oder Monoglyceriden als Emulgatormischung stabilisiert wird. H. SLOVITER schützt mit US-P 43 97 870 einen Prozeß zur Erhöhung der intravasalen Verweilzeit von Fluorcarbonemulsionen im Blutkreislauf des lebenden Organismus, indem in das zirkulierende Blut Lecithin als Emulgator zur Aufrechterhaltung einer hohen Blutlipidkonzentration injiziert wird. Der gleiche Erfinder beschreibt in US-P 44 97 829 ein Verfahren zur Herstellung stabiler Fluorcarbonemulsionen, wonach durch Ultraschalleinwirkung Phospholipide in physiologischen Lösungen mit Perfluordecalin,

F-Methyldecalin, F-Tripropylamin oder F-Tributylamin in Konzentrationen von 30 bis 75% emulgiert werden. Die Teilchengrößen betragen im Durchschnitt 200 nm. Fluorcarbonemulsionen mit extrem hohen Fluorcarbongehalten von 30 bis 125% w/v in Form des F-Octylbromids werden von D. LONG jr. mit EP 3 07 087 (1988) beansprucht. Das Wesen der Erfindung ist, daß als Emulgatoren Lecithin, anionische Tenside oder Fluor-tenside Anwendung finden. Als onkotisch wirkende Komponente wird Mannitol eingesetzt, und zur Emulgierung dient ein spezieller Prozeß unter Einbeziehung einer Druckhomogenisierung.

Ein weiteres Beispiel für konzentrierte stabile wäßrige Fluorcarbonemulsionen wird von SCHWEIGHART und KAYHART von Air Products and Chemicals in EP 2 82 949 (1988) gegeben. Die Erfinder erzielen stabile Fluorcarbonemulsionen größer 60% w/v Fluorcarbon, indem neben einem Phospholipid-Emulgator 5 bis 30% Triglyceride langkettiger Fettsäuren als Co-surfactant angewendet werden. Eine bevorzugte Komposition besteht demnach aus 75% Perfluordecalin, 1 bis 2% Phospholipid und 20% Fettsäuretriglycerid. Bei einer optimalen Zusammensetzung der Emulsion beträgt die mittlere Teilchengröße 150 nm und ist bei 25°C 30 Tage stabil.

Der Erfindung liegt nun die Aufgabe zugrunde, eine wäßrige Dispersion Fluorcarbon enthaltender Phospholipidvesikel und ein Verfahren zu ihrer Herstellung zu entwickeln, wobei die Fluorcarbone, die bisher mit Lipiden und Zusatzstoffen in Form klassischer Emulsionen als Emulsionspartikel stabilisiert wurde, nunmehr in käfigartige Phospholipidbilayerstrukturen (Vesikel) eingeschlossen sind.

Es wurde erfindungsgemäß eine wäßrige Dispersion Fluorcarbon enthaltender Phospholipidvesikel gefunden, die dadurch gekennzeichnet ist, daß in der wäßrigen Dispersion die Phospholipidvesikel ein oder mehrere sauerstofftransportierende Fluorcarbone in einer Konzentration zwischen 2 und 100% w/v käfigartig und mit lamellarer Schichtstruktur ausgebildet eingeschlossen enthalten und die wäßrige Dispersion diese Phospholipidvesikel mit einer einheitlichen Teilchengröße zwischen 80 und 400 nm enthält.

Die erfindungsgemäße Phospholipidvesikel sind die aus den natürlichen Phospholipiden hergestellten, wie aus Sojalecithine, Eilecithine, oder die aus den synthetischen Phospholipiden hergestellten, wie aus 1, 2-Dilauryl-glycero-3-phosphorylcholin, 1,2-Distearoyl-glycero-3-phosphorylethanolamin, oder deren Derivate.

Die erfindungsgemäßen sauerstofftransportierenden Fluorcarbone sind aus der Gruppe der geradkettigen und verzweigten Fluoralkane, der Mono- und Polycyclo-Fluoralkane, der aliphatischen tertiären Fluoramine, der cyclischen Fluoramine, der alicyclischen Fluoraminooether, der aliphatischen und polycyclischen Fluorether, der Bis-(Fluoralkyl)ethene, der Fluoralkylhalogenide oder aus Gemischen von diesen ausgewählt. (Das Symbol F — bzw. Fluor — bedeutet nach J.A. Young, J. Chem. Doc. 14 (1974) 98 den perfluorierten Zustand der nachfolgend genannten chemischen Verbindung.)

Erfindungsgemäß bevorzugte sauerstofftransportierende Fluorcarbone sind Fluor-Octan bis Fluor-Dodecan, Fluor-n-butyl-cyclohexan, Fluor-Decalin, Fluor-Methyldecalin, Fluor-Tripropylamin, Fluor-Dibutylmethylamin, Fluor-Tributylamin, Fluor-Cyclohexylmethylmorpholin, Fluor-Alkylsubstituierte Cyclohexylmorpholine, Fluor-Cyclohexylpiperidin und deren Fluor-Alkylderivate, Fluor-Cyclohexyloxyethylmorpholin, Flu-

or-n-dihexylether, Fluor-2,5-dioxabicyclo[4.4.0]decan, Fluor-4-methyloxymethyl-2,5-dioxabicyclo[4.4.0]decan, Fluor-4-ethoxymethyl-2,5-dioxabicyclo[4.4.0]decan, Bis-(Fluorhexyl)ethen, Bis-(Fluorbutyl)ethen, Fluor-Octylchlorid, Fluor-Hexylbromid, Fluor-Octylbromid oder ein oder mehrere Gemische von diesen.

Erfindungsgemäß besonders bevorzugte sauerstofftransportierende Fluorcarbone sind Fluor-Cyclohexylmethylmorpholin, PerfluorDecalin oder Fluor-Dibutylmethylamin.

Weiterhin wurde erfindungsgemäß ein Verfahren zur Herstellung einer wäßrigen Dispersion Fluorcarbon enthaltender Phospholipidvesikel gefunden, das dadurch gekennzeichnet ist, daß man ein Phospholipid und ein oder mehrere sauerstofftransportierende Fluorcarbone wahlweise unter Zusatz eines Ethylenoxid-Propylenoxid-Blockpolymeremulgators in wäßriger Phase auf einen einheitlichen Teilchendurchmesser zwischen 80 und 400 nm homogenisiert und die Phase der Fluorcarbon enthaltenden Phospholipidvesikel, nach dem Entfernen des Emulgators, isoliert, wobei man das Phospholipid in einer Konzentration zwischen 2 und 12 Massenanteile in % und das oder die sauerstofftransportierenden Fluorcarbone in einer Konzentration von 2 bis 100% w/v einsetzen und den EO-PO-Blockpolymeremulgator in einer Konzentration zwischen 0,1 und 1,6 Massenanteile in %, insbesondere zwischen 0,5 und 0,9 Massenanteile in %, zusetzen kann.

Die erfindungsgemäße Homogenisierung in wäßriger Phase kann man bevorzugt bei einem Druck zwischen 100 und 700 atm., insbesondere zwischen 300 und 500 atm. oder mit Ultraschall einer Leistung zwischen 50 und 500 w/cm² durchführen.

Die für das Herstellungsverfahren erfindungsgemäßen Phospholipide sind natürlich hergestellte, wie die Sojalecithine, die Eilecithine, oder die synthetisch hergestellten, wie 1,2-Dilauroyl-glycero-3-phosphorylcholin, 1,2-Distearoyl-glycero-3-phosphorylethanolamin, oder deren Derivate.

Für das Herstellungsverfahren kann man erfindungsgemäß als sauerstofftransportierende Fluorcarbone die aus der Gruppe der geradkettigen und verzweigten Fluoralkane, der Mono- und Polycyclo-Fluoralkane, der aliphatischen tertiären Fluoramine, der cyclischen Fluoramine, der alicyclischen Fluoraminoether, der aliphatischen und polycyclischen Fluorether, der Bis-(Fluoralkyl)-ethene, der Fluoralkylhalogenide oder aus Gemischen von diesen ausgewählt einsetzen.

Als erfindungsgemäß bevorzugt für das Herstellungsverfahren lassen sich als sauerstofftransportierende Fluorcarbone Fluor-Octan bis Fluor-Dodecan, Fluor-n-butylcyclohexan, Fluor-Decalin, Fluor-Methyldecalin, Fluor-Tripropylamin, Fluor-Dibutylmethylamin, Fluor-Tributylamin, Fluor-Cyclohexylmethylmorpholin, Fluor-Alkylsubstituierte Cyclohexylmorpholine, Fluor-Cyclohexylpiperidin und deren Fluor-Alkylderivate, Fluor-Cyclohexyloxyethylmorpholin, Fluor-2,5-dioxabicyclo[4.4.0]decan, Fluor-4methoxymethyl-2,5-dioxabicyclo[4.4.0]decan, Bis-(Fluorhexyl)ethen, Bis-(Fluorbutyl)-ethen, Fluor-Octylchlorid, Fluor-Hexylbromid, Fluor-Octylbromid oder ein oder mehrere Gemische von diesen einsetzen.

Erfindungsgemäß besonders bevorzugte sauerstofftransportierende Fluorcarbone sind Fluor-Cyclohexylmethylmorpholin, Perfluor-Decalin oder Fluor-Dibutylmethylamin.

Als EO-PO-Blockpolymeremulgator kann man wahlweise erfindungsgemäß einen solchen im Molmassenbe-

reich größer 6000 Dalton mit einem Ethylenoxid-Anteil im Emulgatormolekül zwischen 15 und 30% oder ein Gemisch von diesen Verbindungen einsetzen.

Die Bedingungen für das Herstellungsverfahren wurden erfindungsgemäß so gewählt, daß der Einschluß der Fluorcarbone in den Käfig der Bilayerstrukturen erfolgt und unilamellare bzw. multilamellare, auf die Teilchengröße bezogene, einheitliche Vesikel gebildet werden.

Während bekanntermaßen durch Emulgatormoleküle in der Adsorptionsschicht von O/W-Systemen stabilisierte Emulsionspartikel thermodynamisch instabil sind, stellen lipidstabilisierte Partikel mit Bilayerstrukturen thermodynamisch stabile Systeme dar.

Untersuchungen an den entsprechenden Systemen haben ergeben, daß die resultierenden fluorcarbongefüllten Vesikel in ihrer Stabilität unabhängig von der Zeit sind. Eine Lagerung bei Raumtemperatur ist möglich ohne das üblicherweise auftretende Teilchenwachstum, und eine thermische Belastung bei 90°C ist ohne negative Auswirkungen durchführbar.

Im Gegensatz zu den vorherrschenden konventionellen Fluorcarbonemulsionen sind die entsprechenden Vesikelstrukturen unabhängig von der Art des verwendeten Fluorcarbons und der vesikulierten Menge. Auf diesem Wege lassen sich unproblematisch hochkonzentrierte z. B. 100%ige w/v Lipidvesikel erzeugen. Vorteilhaft dabei ist die entgegen der Erwartung nur geringfügig ansteigende Viskosität.

Die Ausbildung der Vesikelstruktur bei den spezifischen Verfahrensbedingungen ist durch eine Anzahl von Untersuchungsmethoden (³¹P-NMR, Gelchromatographie, PCS, Stabilitätsuntersuchungen) verifiziert worden.

Im Gegensatz zu wäßrigen Vesikeln weisen fluorcarbongefüllte Vesikel eine Polaritätsumkehr auf, d. h. die Fettsäurereste des Phospholipidmoleküls sind zum unpolaren Fluorcarbonkern der Vesikel ausgerichtet, die damit als inverse Vesikel anzusehen ist. Ungeachtet dessen, erfolgt der Aufbau der lamellaren Schichten, die bis zur Ausbildung flüssig-kristalliner Strukturen führen kann.

Die extreme Stabilität der Aggregate resultiert aus der Ausbildung multilamellarer Schichtstrukturen, der Orientierung negativer Oberflächenladungen und der Wasseraufnahme (Quellvermögen) der lamellaren Strukturen. Die für Emulsionssysteme entscheidende Depression der Grenzflächenspannung durch einen Emulgator ist für das vorliegende Phospholipidsystem nicht relevant.

Entsprechend dem Konzentrationsverhältnis von Fluorcarbon und zur Vesikulierung eingesetztem Phospholipid werden unilamellare gefüllte Phospholipidvesikel mit Vesikeldurchmessern von bis zu 100 nm erhalten. Ein Überschuß an Phospholipid in Bezug auf den theoretisch zu berechnenden unilamellaren Zustand ergibt multilamellare Vesikel mit elektronenmikroskopisch nachweisbaren konzentrischen Bilayern. Deren Teilchengrößen können bis auf Werte von über 400 nm ansteigen. Die Vereinheitlichung der Vesikeldurchmesser im Herstellungsprozeß ist von eminenter Bedeutung, da eine breite Teilchengrößenverteilung nachteilig für die biomedizinische Anwendung ist. Bekanntermaßen werden Partikel größer 400 nm zunehmend toxisch und durch sukzessive Phagozytierung im RES dem Blutkreislauf entzogen.

Der bei der Vesikulierung wahlweise zur Anwendung kommende EO-PO-Blockpolymeremulgator hat nicht die Aufgabe, die Fluorcarbontropfen im klassischen Sin-

ne zu stabilisieren, sondern in den Prozeß der Käfigbildung einzugreifen.

Nach Vorstellung von P. Fromherz (Chem. Phys. Letters 94 (1983) 259) reduziert das Blockpolymer die Grenzflächenspannung an den Kanten des aus Bilayerschichten wachsenden sphärischen Aggregats und beschleunigt aus energetischen Gründen den Abschluß der Vesikelbildung bei einheitlichen Teilchengrößen.

Eine systematische Untersuchung der Bildung und Stabilität von Vesikeln mit Mischungen von Phospholipiden und Blockpolymeremulgatoren zwischen 0 und 100% hat maximale Stabilisierung für Gemische mit 90 bis 95% Phospholipid und 5 bis 10% EO-PO-Blockpolymer ergeben. Das Tensid kann bei Bedarf beispielsweise durch Dialyse gegen Wasser unter Beibehaltung der vorteilhaften Eigenschaften des Systems abgetrennt werden.

Die Vorbereitung eines natürlichen Phospholipids kann beispielsweise wie folgt erfolgen:

Kommerzielles Sojalecithin der Zusammensetzung von ca. 30% Phosphatidylcholin, ca. 30% Phosphatidylethanolamin und ca. 30% Phosphatidylinositol wird in einem organischen Lösungsmittel (Chloroform, Chloroform/Methanol) gelöst. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer im Vakuum entfernt und das Phospholipidgemisch an der Kolbenwandung als Film abgeschieden. Durch Zugabe von destilliertem Wasser wird das Lecithin unter Liposomenbildung mit einer definierten Konzentration aufgenommen.

Die sauerstofftransportierenden Fluorcarbone werden nach bekannten und industriell eingeführten Verfahren hergestellt. Dabei werden die perfluorierten aliphatischen und cyclischen tertiären Amine bevorzugt durch elektrochemische Fluorierung der KW-Analoga in flüssigem Fluorwasserstoff (Simons-Prozeß) erzeugt (z. B. perfluorierte N-cyclohexylmethyl-Derivate sekundärer Amine; Groß, Rüdiger, Jonethal, DD-PS 2 80 130, 1988). Dagegen werden fluorierte Ether und Alkane bzw. Cycloalkane vorzugsweise durch Fluorierung mit Cobalt(III)fluorid in der Gasphase hergestellt (u. a. perfluorierte polycycloaliphatische Ether, DE-Patentanmeldung AZ-P 41 01 446.4, 1991). Ein weiteres Verfahren von Bedeutung ist die chemische Synthese ausgehend von perfluorierten Verbindungen wie Perfluoralkyljodiden. Auf diesem Wege ist der Zugang zu Verbindungen des Typs der Bis(F-Alkyl)ethene möglich.

Die Erfindung wird durch folgende Ausführungsbeispiele noch näher erläutert, wobei die Erfindung nicht auf diese Beispiele beschränkt ist.

Beispiel 1

160 g hochreines F-Cyclohexylmethylmorpholin (Sdp. 174°C, kritische Löslichkeitstemperatur in n-Hexan 38,5°C, LD₅₀ > 47,5 g/kg i.p. in der Maus) wurden mit 160 ml einer 7,4% Sojalecithin-Dispersion (kommerzielles Produkt, frei von Lysolecithin) unter Zusatz von 1,2 g eines EO-PO-Blockpolymeremulgators (Molmasse 8500, EO-Gehalt 20%) in einem Hochdruckhomogenisator unter Kühlung und Argonspülung bei 500 bar homogenisiert. Bei automatischer Registrierung der Vesikeldurchmesser wurde der Prozeß bis zu mittleren Teilchendurchmessern von 220 nm fortgeführt. Es wurden 200 ml einer 80% Vesikeldispersion erhalten, deren Struktur durch ³¹P- und ¹⁹F-NMR-Untersuchungen charakterisiert wurde. Die Sterilisierung der Vesikel-Phase erfolgte durch Autoklavierung bei 121°C für 20 Minuten. Die Sauerstofflöslichkeit betrug 35 ml

O₂/100 ml. Toxizitätsuntersuchungen i.v. in der Ratte waren negativ.

Die Komplettierung zum biokompatiblen Blutersatzmittel erfolgte mit einem Adjuvantienpaket von 20 Vol-% (Elektrolyte, Glucose, Albumin).

Beispiel 2

60 g Perfluorodecalin wurden mit 58 ml einer 8,6% wäßrigen Ei-Lecithin-Dispersion und 0,5 g Pluronic F 68 unter Eiskühlung und N₂-Atmosphäre 15 Minuten mit einem Ultraschalldesintegrator (180 W/cm²) in Intervallen beschallt. Es wurde eine stabile 60% w/v PFD-Vesikeldispersion mit einem mittleren Teilchendurchmesser von 140 nm und einer Viskosität von 11 cP erhalten. Das Tensid wurde durch Dialyse über eine semipermeable Membran abgetrennt. Die Vesikelstruktur wurde durch Linienform und Linienbreite (201,6 Hz) des ³¹P-NMR-Signals bestätigt. Eine weitere Charakterisierung erfolgte durch Gelfiltration der wäßrigen Vesikeldispersion an einer Shodex OH pak B-Säule mit RI-Detektion (negativer Peak). Die Vesikeldispersion ist bei Raumtemperatur langzeitstabil. Alterungsversuche bei 90°C über 4 Stunden ergaben ein nur unerhebliches Teilchenwachstum und keine Zerstörung der Vesikelstruktur.

Beispiel 3

12,5 g F-Dibutylmethylamin (Sdp. 133°C, kritische Löslichkeitstemperatur in n-Hexan 46°C, LD₅₀ > 55 g/kg) wurden mit 43 ml einer wäßrigen 5% Sojalecithin-Dispersion unter Kühlung und Inertgas US-homogenisiert. Der mittlere Teilchendurchmesser betrug 110 nm. Nach Komplettierung zum Blutersatzmittel wurde mit einer 20% Dispersion ein partieller Blutaustausch an Ratten vorgenommen. Mittels ¹⁹F-NMR-tomographischer Untersuchungen am lebenden Tier sowie an isolierten Organen (Leber, Niere, Herz) wurde die F-DBMA Akkumulation bzw. Exkretion in zeitlicher Abhängigkeit verfolgt.

Patentsprüche

1. Wäßrige Dispersion Fluorcarbon enthaltender Phospholipidvesikel, **dadurch gekennzeichnet**, daß in der wäßrigen Dispersion die Phospholipidvesikel ein oder mehrere sauerstofftransportierende Fluorcarbone in einer Konzentration zwischen 2 und 100% w/v käfigartig und mit lamellarer Schichtstruktur ausgebildet eingeschlossen enthalten und die wäßrige Dispersion diese Phospholipidvesikel mit einer einheitlichen Teilchengröße zwischen 80 und 400 nm enthält.

2. Phospholipidvesikel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Phospholipidvesikel die aus den natürlichen Phospholipiden hergestellten, wie aus Sojalecithine, Eilecithine, oder die aus den synthetischen Phospholipiden hergestellten, wie aus 1,2-Dilauroyl-glycero-3-phosphorylcholin, 1,2-Distearoylglycero-3-phosphorylethanolamin, oder deren Derivate, sind.

3. Phospholipidvesikel nach dem Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß das oder die sauerstofftransportierenden Fluorcarbone aus der Gruppe der geradkettigen und verzweigten Fluoralkane, der Mono- und Polycyclo-Fluoralkane, der aliphatischen tertiären Fluoramine, der cyclischen Fluoramine, der alicyclischen Fluoraminoether, der ali-

phatischen und polycyclischen Fluorether, der Bis-(Fluoralkyl)ethene, der Fluoralkylhalogenide oder aus Gemischen von diesen ausgewählt sind.

4. Phospholipidvesikel nach Anspruch 1 und 3, dadurch gekennzeichnet, daß das oder die sauerstofftransportierenden Fluorcarbone Fluor-Octan bis Fluor-Dodecan, Fluor-n-butyl-cyclohexan, Fluor-Decalin, Fluor-Methyldecalin, Fluor-Tripropylamin, Fluor-Dibutylmethylamin, Fluor-Tributylamin, Fluor-Cyclohexylmethylmorpholin, Fluor-Alkylsubstituierte Cyclohexylmorpholine, Fluor-Cyclohexylpiperidin und deren Fluor-Alkylderivate, Fluor-Cyclohexyloxyethylmorpholin, Fluor-n-dihexylether, Fluor-2,5-dioxabicyclo[4.4.0]decan, Fluor-4-methoxymethyl-2,5-dioxabicyclo[4.4.0]decan, Fluor-4-ethoxymethyl-2,5-dioxabicyclo[4.4.0]decan, Bis-(Fluorhexyl)-ethen, Bis-(Fluorbutyl)-ethen, Fluor-Octylchlorid, Fluor-Hexylbromid, Fluor-Octylbromid oder ein oder mehrere Gemische von diesen sind.

5. Phospholipidvesikel nach Ansprüchen 1, 3 und 4, dadurch gekennzeichnet, daß das oder die sauerstofftransportierenden Fluorcarbone Fluor-Cyclohexylmethylmorpholin, Perfluor-Decalin oder Fluor-Dibutylmethylamin sind.

6. Verfahren zur Herstellung einer wäßrigen Dispersion Fluorcarbon enthaltender Phospholipidvesikel, dadurch gekennzeichnet, daß man ein Phospholipid und ein oder mehrere sauerstofftransportierende Fluorcarbone wahlweise unter Zusatz eines Ethylenoxid-Propylenoxid-Blockpolymeremulgators in wäßriger Phase auf einen einheitlichen Teilchendurchmesser zwischen 80 : 400 nm homogenisiert und die Phase der Fluorcarbon enthaltenden Phospholipidvesikel, nach dem Entfernen des Emulgators, isoliert.

7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß man das Phospholipid in einer Konzentration zwischen 2 und 12 Massenanteile in % einsetzt.

8. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß man das oder die sauerstofftransportierenden Fluorcarbone in einer Konzentration von 2 bis 100% w/v einsetzt.

9. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß man den Ethylenoxid-Propylenoxid-Blockpolymeremulgator in einer Konzentration zwischen 0,1 und 1,6 Masseanteile in %, insbesondere zwischen 0,6 und 0,9 Massenanteile in %, einsetzt.

10. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß man die Homogenisierung in wäßriger Phase bei einem Druck zwischen 100 und 700 atm., insbesondere zwischen 300 und 500 atm., durchführt.

11. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß man die Homogenisierung in wäßriger Phase mit Ultraschall einer Leistung zwischen 50 und 500 w/cm² durchführt.

12. Verfahren nach den Ansprüchen 6, 7, 10 und 11, dadurch gekennzeichnet, daß man als Phospholipid ein natürlich hergestelltes, wie die Sojalecithine, die Eilecithine, oder ein synthetisch hergestelltes, wie 1,2-Dilauroyl-glycero-3-phosphorylcholin, 1,2-Distearoylglycero-3-phosphorylethanolamin, oder deren Derivate, einsetzt.

13. Verfahren nach den Ansprüchen 6, 8, 10 und 11, dadurch gekennzeichnet, daß man als das oder die

sauerstofftransportierenden Fluorcarbone die aus der Gruppe der geradkettigen und verzweigten Fluoralkane, der Mono- und Polycyclo-Fluoralkane, der aliphatischen tertiären Fluoramine, der cyclischen Fluoramine, der alicyclischen Fluoraminoether, der aliphatischen und polycyclischen Fluorether, der Bis-(Fluoralkyl)-ethene, der Fluoralkylhalogenide oder aus Gemischen von diesen ausgewählt einsetzt.

14. Verfahren nach den Ansprüchen 6, 8, 10, 11 und 13, dadurch gekennzeichnet, daß man als das oder die sauerstofftransportierenden Fluorcarbone Fluor-Octan bis Fluor-Dodecan, Fluor-n-butylcyclohexan, Fluor-Decalin, Fluor-Methyldecalin, Fluor-Tripropylamin, Fluor-Dibutylmethylamin, Fluor-Tributylamin, Fluor-Cyclohexylmethylmorpholin, Fluor-Alkylsubstituierte Cyclohexylmorpholine, Fluor-Cyclohexylpiperidin und deren Fluor-Alkylderivate, Fluor-Cyclohexyloxyethylmorpholin, Fluor-n-dihexylether, Fluor-2,5-dioxabicyclo[4.4.0]decan, Fluor-4-methoxymethyl-2,5-dioxabicyclo[4.4.0]decan, Fluor-4-ethoxymethyl-2,5-dioxabicyclo[4.4.0]decan, Bis-(Fluorhexyl)ethen, Bis-(Fluorbutyl)ethen, Fluor-Octylchlorid, Fluor-Hexylbromid, Fluor-Octylbromid oder ein oder mehrere Gemische von diesen einsetzt.

15. Verfahren nach den Ansprüchen 6, 8, 10, 11, 13 und 14, dadurch gekennzeichnet, daß man als das oder die sauerstofftransportierenden Fluorcarbone Fluor-Cyclohexylmethylmorpholin, Perfluor-Decalin oder Fluor-Dibutylmethylamin einsetzt.

Verfahren nach den Ansprüchen 6, 9, 10 und 11, dadurch gekennzeichnet, daß man als Ethylenoxid-Propylenoxid-Blockpolymeremulgator einen solchen im Molmassenbereich größer 6000 Dalton mit einem Ethylenoxid-Anteil im Emulgatormolekül zwischen 15 und 30% oder ein Gemisch von diesen Verbindungen einsetzt.

- Leerseite -